

10/522832

DT15 Rec'd PCT/PTO 02 FEB 2005



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

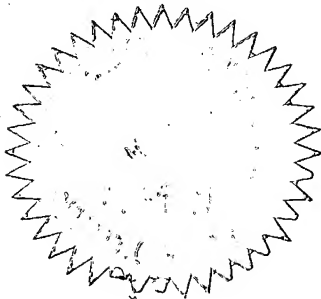
This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원번호 : 10-2003-0019229
Application Number

출원년월일 : 2003년 03월 27일
Date of Application MAR. 27, 2003

출원인 : 주식회사 유니젠
Applicant(s) Unigen Co., Ltd.

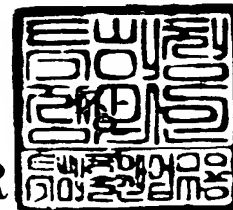
**CERTIFIED COPY OF
PRIORITY DOCUMENT**



2005 년 01 월 19 일

특 허 청

COMMISSIONER



BEST AVAILABLE COPY

【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0001
【제출일자】	2003.03.27
【발명의 명칭】	항염증 활성을 지닌 분죽 추출물 또는 산죽 추출물을 함유하는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학조성물
【발명의 영문명칭】	Pharmaceutical composition comprising the extract of Phyllostachys nigra var. henonis or Sasa borealis Makino having anti-inflammatory activity for the prevention and treatment of inflammatory disease
【출원인】	
【명칭】	주식회사 유니젠
【출원인코드】	1-2000-018162-5
【대리인】	
【성명】	신동인
【대리인코드】	9-2000-000156-1
【포괄위임등록번호】	2003-016755-3
【발명자】	
【성명의 국문표기】	우성식
【성명의 영문표기】	WOO, Sung Sick
【주민등록번호】	631222-1041718
【우편번호】	137-867
【주소】	서울특별시 서초구 서초3동 1454-29 서초한신아파트 101동 1005 호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이승호
【성명의 영문표기】	LEE, Seoung Ho
【주민등록번호】	680612-1380118
【우편번호】	360-013
【주소】	충청북도 청주시 상당구 북문로3가 15-1 대우타워아파트 1003호
【국적】	KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

허영문

【성명의 영문표기】

HEO, Young Moon

【주민등록번호】

690318-1542623

【우편번호】

576-806

【주소】

전라북도 김제시 요촌동 237-19

【국적】

KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

성희선

【성명의 영문표기】

SUNG, Hee Sun

【주민등록번호】

760427-2231217

【우편번호】

440-152

【주소】

경기도 수원시 장안구 화서2동 322-9

【국적】

KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

류종하

【성명의 영문표기】

RYU, Jong Ha

【주민등록번호】

721216-1690617

【우편번호】

706-756

【주소】

대구광역시 수성구 만촌2동 1022-71

【국적】

KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

성선영

【성명의 영문표기】

SUNG, Sun Young

【주민등록번호】

650525-2261118

【우편번호】

456-821

【주소】

경기도 안성시 공도면 용두리 주은풍림아파트 104동 714호

【국적】

KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

송지숙

【성명의 영문표기】

SONG, Ji Sook

【주민등록번호】

700327-2011517

【우편번호】

442-741

【주소】

경기도 수원시 팔달구 영통1동 1052-2 황골마을쌍용아파트 249
동 100 5호

【국적】

KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

이강우

【성명의 영문표기】

LEE,Kang Woo

【주민등록번호】

660501-1396731

【우편번호】

330-930

【주소】

충청남도 천안시 봉명동 9번지 우영아파트 라동 407호

【국적】

KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

이영철

【성명의 영문표기】

LEE,Young Chul

【주민등록번호】

720902-1408012

【우편번호】

301-758

【주소】

대전광역시 중구 오류동 삼성아파트 14동 1103호

【국적】

KR

【발명자】

【성명의 국문표기】

조태형

【성명의 영문표기】

JO,Tae Hyung

【주민등록번호】

520420-1026111

【우편번호】

463-731

【주소】

경기도 성남시 분당구 매송동(아름마을) 건영아파트 305동 301
호

【국적】

KR

【취지】

특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다. 대리인
신동인 (인)

【수수료】

【기본출원료】

20 면 29,000 원

【가산출원료】

10 면 10,000 원

【우선권주장료】

0 건 0 원

【심사청구료】

0 항 0 원

【합계】

39,000 원

【감면사유】

소기업 (70%감면)

【감면후 수수료】

11,700 원

【첨부서류】

1. 요약서·명세서(도면)_1통 2. 소기업임을 증명하는 서류_1통

【요약서】

【요약】

본 발명은 항염증 활성을 갖는 분죽 추출물 또는 산죽 추출물을 함유하는 항염증용 약학 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 분죽 추출물 또는 산죽추출물은 염증유도물질인 지질다당체 LPS로 활성화한 대식세포에서 NO 저해 활성을 나타내므로, 항염증제로 염증반응에 의해 유발되는 여러 염증성 질환의 예방 및 치료를 위한 의약 및 건강기능식품으로 사용될 수 있다.

【대표도】

도 1a

【색인어】

분죽 추출물, 산죽 추출물, 항염증, 염증성 질환, 의약, 건강기능식품.

【명세서】

【발명의 명칭】

항염증 활성을 지닌 분죽 추출물 또는 산죽 추출물을 함유하는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학조성물{Pharmaceutical composition comprising the extract of *Phyllostachys nigra* var. *henonis* or *Sasa borealis* Makino having anti-inflammatory activity for the prevention and treatment of inflammatory disease}

【도면의 간단한 설명】

도 1a 및 도 1b는 분죽 조추출물과 각 용매분획물의 NO저해효과를 관찰한 도이다.

도 2는 RAW264.7 세포주에서 천연추출물의 농도별 iNOS 유전자 발현분석을 관찰한 도이다.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<3> 본 발명은 항염증 활성을 지닌 분죽 추출물 또는 산죽추출물을 함유하는 염증성 질환의 예방 및 치료를 위한 약학조성물에 관한 것이다.

<4> 염증이란 외부 세균의 침입에 의하여 형성되는 농양의 병리적 상태를 뜻하며, 염증반응은 생체의 세포나 조직에 어떠한 기질적 변화를 가져오는 침습으로 인한 손상을 수복 재생하기

위한 생체 방어 반응과정으로, 조직(세포)의 손상이나 외부감염원(박테리아, 곰팡이, 바이러스, 다양한 종류의 알레르기 유발물질)에 감염되었을 때 국소 혈관과 체액 중 각종 염증 매개 인자 및 면역세포가 관련되어 효소활성화, 염증매개물질 분비, 체액 침윤, 세포이동, 조직 파괴 등 일련의 복합적인 생리적 반응과 홍반, 부종, 발열, 통증 등과 같은 외적 증상을 나타낸다. 정상인 경우 염증반응은 외부감염원을 제거하고 손상된 조직을 재생하여 생명체 기능회복작용을 하지만, 항원이 제거되지 않거나 내부물질이 원인이 되어 염증반응이 과도하거나 지속적으로 일어나면 질환의 주요 병리현상(과민성 질환, 만성염증)이 되며, 수혈, 약물투여, 장기이식 등 치료과정에서도 장애요인이 된다.

<5> 이러한 염증반응에 관여하는 염증성 인자인 NO(nitric oxide)는 NO 합성효소(nitric oxide synthase, NOS)에 의해 L-알지닌(L-arginine)으로부터 중간 대사물인 히드록시알지닌(hydroxyarginine)을 거쳐 NO와 시트룰린(citrulline)이 만들어 진다. NO는 생물학적 활성을 지닌 것으로 매우 작은 분자량을 갖고 있는 물질로써 생체 내에서 혈관계에 작용하여 혈관확장, 혈소판 부착 및 응집, 신경전달, 소화기관 운동 등에 관여하는 매개물질이며, 여러 가지 대사 조절 작용 및 생리 작용(신경전달, 혈액응고, 혈압조절, 암세포에 대한 면역 등)을 담당하는 것으로 밝혀져 있으며, 염증세포 뿐만 아니라 비 면역세포에서도 생성되어 미생물 감염에 대한 방어작용을 한다. 일반적으로 NO는 대기 상태에서 가스의 형태로 존재하며, 자유 라디칼 구조이기 때문에 매우 유독할 뿐만 아니라 반감기가 6~10초로 매우 불안정하여, 안정화된 최종 산물인 NO₃(nitrate)와 NO₂(nitrite)로 신속히 변환되는 것으로 알려져 있다(Snyder, S. H., et al., *Scientific American*, May, pp28-35, 1992).

<6> 한편, NO 생성에 관여하는 NOS는 칼슘(Ca²⁺)이나 칼모듈린(camodulin) 의존성 여부에 따라 크게 2가지 즉, cNOS(constitutive NOS)와 iNOS(inducible NOS)로 분류되는데, cNOS는 칼

습이나 칼모듈린 의존성이고 주로 뇌, 상피세포, 호중구, 위장 점막 세포에 존재하며, iNOS는 칼슘이나 칼모듈린 비의존성으로 iNOS는 대식세포, 간세포, 암세포 등에 존재하며, IL-1 β (interlukin-1 β), IFN- γ (interferon- γ), TNF- α (tumor necrosis factor- α) 등과 같은 사이토카인류(cytokines)와 내독소인 세균성 LPS(lipopolysaccharide) 등에 의해 유도된다 (Dinerman, J. L., et al., *Circ. Res.*, 73, pp217-222, 1993). 이러한 자극에 의하여 COX-2(cyclooxygenase-2)도 함께 활성화되어 염증매개물질인 PGs(prostaglandines)가 생성되기 때문에 iNOS 발현과 COX-2의 발현은 매우 밀접한 관련이 있으며, 생성된 NO는 COX-2 발현에 영향을 주기도 한다(Robert C., et al., *J. Immunol.*, 165, pp1582-1587, 2000; Daniela S., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, pp7240-7244, 1993).

<7> 따라서, iNOS에 의한 NO의 생성을 억제하는 물질을 확보하고 이를 의약품으로 개발하려는 노력이 다양하게 진행되고 있다.

<8> 이러한 염증반응에 의해 발생하는 염증성 질환에는 동맥경화 외에 위염, 대장염, 관절염, 신장염, 간염, 암 또는 퇴행성 질환(Gobert A. P. et al., *J. Immunol.* 168(12), pp6002-6006, 2002; Dijkstra G. et al., *Scand. J. Gastroenterol.* 37(5), pp546-554, 2002; Sakac V. and Sakac M. *Med. Pregl.* 53, pp463-474, 2000; Albrecht E. W. et al., *Am. J. Transplant*, 29(5), 448-453, 2002; Ramachandran A. et al., *Free Radical Biol. Med.* 33(11), pp1465-1474, 2002; Sartor L. et al., *Biochemical Pharmacol.* 64, pp229-237, 2002; Sadowska-Krowicka H. et al., *Proc. Soc. Exp. biol. Med.* 217(3), pp351-357, 1998, Lo A-H. et al., *Carcinogenesis*, 23(6), pp983-991, 2002) 등이 포함된다.

<9> 대나무는 화본과 중 가장 키가 큰 식물로 우리나라와 일본을 포함한 동남아시아에 주로 분포하고 있다. 전 세계에 분포하고 있는 족종은 47종 1250여종에 이르고 있다. 우리나라의 대

표 죽종은 왕대, 솜대 및 맹종죽으로 분포면적은 약 5360 헥타이다. 그 중에서 왕대가 2996 헥타, 분죽(솜대)가 2294 헥타, 맹종죽이 70 헥타를 차지하고 있다.

- <10> 분죽(솜대)은 학명이 필로스타키스 니그라 바. 헤노니스(*Phyllostachys nigra* var. *henonis*)로서 다년생 상록목본으로 땅속줄기가 옆으로 자라면서 마디에서 차라 높이 10 m에 달한다. 죽순은 4~5월에 나오고 갈색이며 식용한다.
- <11> 산죽(조릿대)은 학명이 사사 보리엘리스 마키노(*Sasa borealis* Makino)로서 다년생 상록목본으로 높이 1~2 m 정도 자란다. 포는 2~3년간 줄기를 싸고 있으며 털이 있다. 잎은 가지 끝에서 2~3매씩 나고 장타원상 피침형이며 길이는 10~25 cm로 점첨두 이거나 꼬리처럼 길다. 잎 뒷면 기부와 엽초에 털이 있고 잎의 가장자리에 가시 같은 작은 거치가 있다. 꽃은 4월에 피고 열매는 5~6월에 익으며 보통 5년만에 꽃이 피며 꽃이 핀 다음은 죽게 된다
- <12> 대나무는 껍질, 가지, 잎, 순, 내피인 죽여 등이 예로부터 한약재로 이용되어 왔다. 특히 대나무 잎은 맛이 쓰고 성질이 차서 열 내림, 피멧이 약, 중풍, 고혈압 등에 민간요법으로 사용되어 왔고, 살균 및 항진균작용과 항암효과도 있는 것으로 알려져 있다. 또한 대나무를 가열하여 추출한 죽력은 동의보감, 본초강목, 중약대사전 등에서 중풍, 고혈압을 치료하는데 탁월한 효과가 있으며, 최근 보고된 바에 의하면 고혈압, 죽상동맥경화, 심혈관계질환의 치료에 사용되고 있고 항암 및 노화방지에 좋은 작물로 소개되고 있다.
- <13> 한국공개특허 특 2001-0069130에서는 대나무(이대) 잎 추출물의 제조방법 및 이의 항균 활성을 이용한 식품 보존제로서의 용도를 개시하고 있고, W09857545는 죽순으로부터 추출한 피토스테롤을 함유하는 콜레스테롤 저하용 조성물에 대하여 개시하고 있으며, 미국특허출원 US3418311은 대나무의 항암활성을 갖는 다당체에 관해 개시하고 있다.

- <14> 상기와 같은 염증반응 억제 및 염증질환의 치료를 위해서, 여러 가지 항염증 물질이 연구, 개발되었는데, 한국공개특허 특2002-0048703에서는 항염증 작용을 하는 프레닐화된 프라보노이드 유도체들 및 이들을 함유하는 고삼 추출물을 개시하고 있고, 한국공개특허 특2003-0001658에서는 항염증 작용을 하는 곰취 추출물 및 그 분획물에 대해 개시하고 있다.
- <15> 그러나, 상기 문헌에서 대나무의 항염증 작용에 대해서는 개시된 것이 없다.
- <16> 따라서, 본 발명자는 대나무 중 분죽 추출물 또는 산죽추출물의 항염증 효과를 알아보기 위한 방법으로, 분죽 추출물 또는 산죽추출물의 염증유도물질인 리포폴리사커라이드(LPS)로 활성화한 대식세포에 대한 NO의 생성 억제능을 측정한 결과, 그 탁월한 효능을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

- <17> 본 발명은 항염증 효과를 나타내는 새로운 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물 또는 이를 함유하는 의약품 및 건강기능식품을 제공하는 것이다.

【발명의 구성】

- <18> 상기 목적에 따라, 본 발명에서는 분죽 또는 산죽의 조추출물, 극성용매 가용추출물 또는 비극성용매 가용추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물을 제공한다.

- <19> 상기 분죽(*Phyllostachys nigra* var. *henonis*) 또는 산죽(*Sasa borealis* Makino)은 줄기 또는 잎 부분을 사용할 수 있다.
- <20> 상기 분죽 조추출물 또는 산죽 조추출물은 물, 에탄올, 메탄올과 같은 저급알콜 및 이들의 혼합용매, 바람직하게는 물, 50%, 70%, 95%의 에탄올, 더욱 바람직하게는 70 % 에탄올로 추출한 것을 포함한다.
- <21> 상기 분죽 비극성용매 가용추출물 또는 산죽 비극성용매 가용추출물은 n-헥산, 디클로로메탄, 클로로포름 또는 에틸 아세테이트로부터 선택된 비극성용매, 바람직하게는 n-헥산, 디클로로메탄, 에틸 아세테이트로 추출한 것을 포함한다.
- <22> 상기 분죽 극성용매 가용추출물 또는 산죽 극성용매 가용추출물은 아세톤, n-부탄올, 에탄올, 메탄올 또는 물로부터 선택된 극성용매, 바람직하게는 n-부탄올로 추출한 것을 포함한다.
- <23> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.
- <24> 본 발명의 분죽 조추출물 또는 산죽 조추출물은 적절히 세절하여 세척 후 건조한 분죽 또는 산죽의 잎 또는 줄기를 건조중량의 약 1 내지 15배, 바람직하게는 약 10 내지 15배 부피의 물, 메탄올, 에탄올과 같은 저급 알콜 또는 이들의 혼합용매, 바람직하게는 물, 50 %, 70 % 또는 95 %의 에탄올을 투여하고 20 내지 100 ℃, 바람직하게는 50 내지 70 ℃의 추출 온도에서 약 0.5시간 내지 2일, 바람직하게는 1시간 내지 1일 동안 열수 추출, 냉침 추출, 환류 냉각 추출 또는 초음파 추출 등의 추출방법으로, 바람직하게는 환류 냉각 추출로 1회 내지 5회, 바람직하게는 2회 내지 3회 반복하여 수득한 후, 감압여과하고 여과한 추출물을 진공회전농축기로 20 내지 100 ℃, 바람직하게는 50 내지 70 ℃에서 감압농축한 후 추출된 잔사를 진공동결건조

조기로 건조하여 물, 에탄올, 메탄올과 같은 저급알콜 또는 이들의 혼합용매에 가용한 분죽 조추출물 또는 산죽 조추출물을 얻을 수 있다.

<25> 상기의 분죽 조추출물 또는 산죽 조추출물은 물에 현탁한 후, n-헥산, 디클로로메탄, 에틸 아세테이트, n-부탄올 순으로 용매를 이용하여 본 발명의 분죽 또는 산죽의 각 용매 분획물을 수득할 수 있는데, 바람직하게는 분죽 조추출물 또는 산죽 조추출물에 등량의 n-헥산과 물의 혼합용매를 사용하여 분죽 또는 산죽의 n-헥산 가용성 분획물 및 수가용성 분획물을 수득할 수 있고, 다시 상기 각각의 수가용성 분획물을 디클로로메탄으로 추출하여 분죽 또는 산죽의 디클로로메탄 가용성 분획물 및 수가용성 분획물을 수득할 수 있으며, 이 각각의 수가용성 분획물에 에틸아세테이트를 가하여 분죽 또는 산죽의 에틸 아세테이트가용성 분획물 및 수가용성 분획물을 수득할 수 있고, 마지막으로 상기 각각의 수가용성 분획물을 n-부탄올로 추출하여 분죽 또는 산죽의 n-부탄올가용성 분획물과 수가용성 분획물을 얻을 수 있다.

<26> 발명은 상기 방법으로 수득된 분죽 또는 산죽의 조추출물, 비극성용매 가용 추출물 또는 극성용매 가용추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물을 제공한다.

<27> 또한 상기 염증반응에 의해 발생하는 염증성 질환에는 염증 및 위염, 대장염, 관절염, 신장염, 간염, 동맥경화, 암 또는 퇴행성 질환 등이 포함된다.

<28> 상기에서 수득된 분죽 추출물 또는 산죽 추출물의 항염증제로서의 효능을 조사하기 위하여, RAW 264.7 세포주에 리포폴리사카라이드(LPS)와 분죽 추출물 또는 산죽 추출물을 동시에 처리하여 염증반응인자에 미치는 영향을 관찰해본 결과, 본 발명에 따른 분죽 추출물 또는 산죽 추출물이 NO 활성을 뛰어나게 억제시킴을 확인하였다.

- <29> 본 발명의 분죽 추출물 또는 산죽 추출물을 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 추출물을 0.1 내지 50 중량 %로 포함한다.
- <30> 또한, 본 발명의 분죽 추출물 또는 산죽 추출물을 포함하는 조성물은 약학조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.
- <31> 본 발명의 추출물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는, 락토즈, 텍스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다.
- <32> 본 발명에 따른 추출물을 포함하는 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사 용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.
- <33> 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출물을 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (calcium carbonate), 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose), 제라틴 등을 섞어 조제한다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현

탁제로는 프로필렌글리콜(propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기재로는 위텡솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

<34> 본 발명의 추출물의 사용량은 환자의 나이, 성별, 체중에 따라 달라질 수 있으나, 0.1 내지 100 mg/kg의 양을 일일 1회 내지 수회 투여할 수 있다. 또한 그 추출물의 투여량은 투여 경로, 질병의 정도, 성별, 체중, 나이 등에 따라서 증감될 수 있다. 따라서, 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

<35> 본 발명의 약학조성물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내(intracerebroventricular)주사에 의해 투여될 수 있다.

<36> 또한 본 발명의 분죽 추출물 또는 산죽 추출물은 기타 식품의 주, 부원료 및 식품첨가제로서 사용이 가능하다.

<37> 또한 본 발명은 염증성 질환의 예방효과를 나타내는 분죽 추출물 또는 산죽 추출물 및 식품학적으로 허용되는 식품 보조 첨가제를 함유하는 건강기능식품을 제공한다.

<38> 본 발명의 추출물을 포함하는 조성물은 염증성 질환의 예방 효과를 위한 약제, 식품 및 음료 등에 다양하게 이용될 수 있다. 본 추출물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강기능식품류 등이 있다.

- <39> 본 발명의 추출물 자체는 1000 mg/kg 용량으로 쥐에게 경구투여 하였을 때 독성이 거의 없는 것으로 나타났고, 또한, 간을 비롯한 장기의 기능에 어떠한 부작용도 나타내지 않았으므로, 예방 목적으로 일정범위 내에서 장기간 복용 시에도 안심하고 사용할 수 있는 약제이다.
- <40> 본 발명의 상기 추출물은 염증성 질환의 예방 효과를 목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있다. 이 때, 식품 또는 음료 중의 상기 추출물의 양, 즉 일반적으로 본 발명의 건강기능 조성물은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 % 중량으로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ml를 기준으로 0.02 내지 10 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.
- <41> 본 발명의 건강 음료 조성물은 지시된 비율로, 필수 성분으로서 상기 추출물을 함유하는 외에는 액체성분에는 특별한 제한점은 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제(타우마틴, 스테비아 추출물, 예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진등) 및 합성 향미제(사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ml당 일반적으로 약 1 내지 20 g, 바람직하게는 약 5 내지 12 g이다.
- <42> 상기 외에 본 발명의 조성물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 증진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산 음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 조성물들은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은

독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 조성물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

<43> 본 발명은 상기 방법으로 수득된 염증성 질환의 예방효과를 나타내는 분죽 추출물 또는 산죽 추출물 및 보조 첨가제를 함유하는 피부약제 또는 화장료인 항염조성물을 제공한다.

<44> 본 발명은 다음의 실시예에 의거하여 더욱 상세히 설명되나, 본 발명이 이에 의해 제한되지는 않는다.

<45> 실시예 1. 분죽 조추출물의 제조

<46> 본 발명에 사용한 대나무는 한국산을 구입하여 사용하였으며, 구입한 분죽은 깨끗한 물로 수세한 후 자연 건조하여 추출용 시료로 사용하였다.

<47> 건조 후 작은 조각으로 만든 분죽 1 kg에 건조중량의 약 15배에 달하는 70 % 에탄올 15 ℓ를 가하여 70 °C에서 일정시간 간격(12 h, 12h, 12h)으로 3회 반복하여 환류냉각으로 연속 추출한 후 여지(와트만사, 미국)로 감압여과한 다음 여액을 모아 진공회전농축기로 60 °C에서 감압농축 한 후 추출된 잔사를 진공동결건조기로 건조하여 분죽 건조 조추출물 50 g을 얻었고, -20 °C 냉동고에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

<48> 실시예 2. 분죽 n-헥산 가용성 분획물의 제조

<49> 상기 실시예 1에서 얻은 분죽 조추출물 50 g에 1 ℓ의 증류수를 가하여 현탁하고, n-헥산 1 ℓ를 가하여 혼합한 후, 3차례 반복, 분획하여 수가용성 분획물 2 ℓ 및 n-헥산가용성 분

획물 2 ℓ를 얻은 후 n-헥산가용성 분획물을 여과 후 감압건조하여 n-헥산 가용성 분획물의 분
축 건조분말 9.1 g을 수득하여 시료로 사용하였다.

<50> 실시예 3. 분축 디클로로메탄 가용성 분획물의 제조

<51> 상기 실시예 2에서 얻은 수가용성 분획물 2 ℓ에 디클로로메탄 1 ℓ를 가하여 혼합한
후 3차례 반복, 분획하여 수가용성 분획물 2 ℓ 및 디클로로메탄 가용성 분획물 2 ℓ를 얻은 후
, 이 디클로로메탄 가용성 분획물을 여과 후 감압건조하여 디클로로메탄 가용성 분획물의 분축
건조분말 4.6 g을 수득하여 시료로 사용하였다.

<52> 실시예 4. 분축 에틸 아세테이트 가용성 분획물의 제조

<53> 상기 실시예 3에서 얻은 수가용성 분획물 2 ℓ에 에틸아세테이트 1 ℓ를 가하여 혼합한
후 3차례 반복, 분획하여 수가용성 분획물 2 ℓ 및 에틸아세테이트 가용성 분획물 2 ℓ를 얻은
후, 이 에틸 아세테이트 가용성 분획물을 여과 후 감압건조하여 에틸 아세테이트 가용성 분획
물의 분축 건조분말 4.3 g을 수득하여 시료로 사용하였다.

<54> 실시예 5. 분축 n-부탄올 가용성 분획물의 제조

<55> 상기 실시예 4에서 얻은 수가용성 분획물 2 ℓ에 n-부탄올 2 ℓ를 가하여 혼합한 후 3차
례 반복, 분획하여 수가용성 분획물 2 ℓ 및 n-부탄올가용성 분획물 2 ℓ를 얻은 후, 이 n-부
탄올 가용성 분획물을 여과 후 감압건조하여 n-부탄올 가용성 분획물의 분축 건조분말 7.1 g
및 수가용성 분획물의 분축 건조분말 25.1 g을 수득하여 시료로 사용하였다.

<56> 실시예 6. 산죽의 조추출물 및 각 용매분획물의 제조

<57> 산죽에 대해서도 실시예 1 내지 5와 동일한 제조과정을 수행하여 하기 표 1에 나타난 바와 같이 각각의 추출물을 얻었다.

<58> 【표 1】

실시예	추출물 명	추출물 수득량
1	산죽 조추출물	57 g
2	산죽 n-헥산 가용성 분획물	9.5 g
3	산죽 디클로로메탄 가용성 분획물	4.1 g
4	산죽 에틸아세테이트 가용성 분획물	4.8 g
5	산죽 n-부탄올 가용성 분획물	27.9 g
5	산죽 수가용성 분획물	27.9 g

<59> 실험예 1. 분죽 추출물 및 산죽 추출물의 NO 저해 효과

<60> 염증반응에 관여하는 염증성 인자인 NO에 대한 분죽 또는 산죽의 조추출물 및 각 용매 분획물의 저해 효과를 관찰하기 위해 RAW 264.7 세포주에 LPS와 시료(분죽 추출물)를 각각 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로, 동시에 처리하여 20시간 배양한 후 배양액 100 μl 를 96웰 평판에 취하고, 그리즈 시약(Griess reagent) 50 μl 씩을 가하여 10분 동안 실온에서 반응을 시킨 다음 ELISA 리더(reader)로 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

<61> 그 결과는 하기의 표 2와 같으며, 분죽 조추출물과 각 용매 분획물의 경우 시료를 처리하지 않은 시료 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 일 경우, 대조군의 NO 저해율이 0.34 %인 반면에 분죽 조추출물은 33.1 %, n-헥산 가용성 분획물은 51.0 %, 디클로로메탄 가용성 분획물은 53.6 %, 에틸 아세테이트 가용성 분획물은 39.1 %, n-부탄올 가용성 분획물은 12.5 %, 수가용성 분획물은 -11.9 %였으며, 시료 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 일 경우, 대조군의 NO 저해율은 0.38 %인 반면에 분죽 조추출물은 73.2

%, n-헥산 가용성 분획물은 91.1 %, 디클로로메탄 가용성 분획물은 90.8 %, 에틸 아세테이트 가용성 분획물은 85.5 %, n-부탄올 가용성 분획물은 48.5 %, 수가용성 분획물은 14.5 % 로, 대조군에 비해서 탁월한 저해효능을 나타냈으며, 농도에 따라 저해율이 증가하는 양상을 보였고, 비극성용매 가용 추출물이 극성용매 가용 추출물보다 그 효과가 약간 높은 것으로 나타났다(도 1a, 도 1b). 또한 산죽 조추출물과 각 용매분획물에서도 하기의 표 2와 같이, 시료를 처리하지 않은 시료 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 일 경우, 대조군의 NO 저해율이 0.23 %인 반면에 산죽 조추출물은 21.5 %, n-헥산 가용성 분획물은 45.2 %, 디클로로메탄 가용성 분획물은 48.5 %, 에틸 아세테이트 가용성 분획물은 30.1 %, n-부탄올 가용성 분획물은 9.4 %, 수가용성 분획물은 0 %였으며, 시료 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 일 경우, 대조군의 NO 저해율은 0.25 %인 반면에 분죽 조추출물은 60.3 %, n-헥산 가용성 분획물은 84.3 %, 디클로로메탄 가용성 분획물은 82.4 %, 에틸 아세테이트 가용성 분획물은 80 %, n-부탄올 가용성 분획물은 35.1 %, 수가용성 분획물은 9.4 % 로, 대조군에 비해서 탁월한 저해효능을 나타냈으며, 농도에 따라 저해율이 증가하는 양상을 보였고, 비극성용매 가용 추출물이 극성용매 가용 추출물보다 그 효과가 약간 높은 것으로 나타났다.

<62> 【표 2】

대나 부	시료	대조군	LPS	조추출물	헥산 층	디클로로 메탄 층	에틸 아세 테이트 층	부탄올 층	물 층
분 죽	50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.34 %	0.10 %	33.1 %	51.0 %	53.6 %	39.1 %	12.5 %	11.9 %
	100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.38 %	0.12 %	73.2 %	91.1 %	90.8 %	85.5 %	48.5 %	14.5 %
산 죽	50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.23%	0.15 %	21.5 %	45.2 %	48.5 %	30.1 %	9.4 %	0 %
	100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.25 %	0.14 %	60.3 %	84.3 %	82.4 %	80 %	35.1 %	9.4 %

<63> 비교예 1. RAW 264.7 세포주에서 천연추출물의 농도별 iNOS 유전자 발현 분석

<64> RAW 264.7 세포주에서 천연추출물의 농도별 iNOS 유전자 발현을 관찰하기 위해 RAW 264.7 세포주(mouse macrophage cell)를 1×10^6 개가 되도록 100 mm 디쉬에 접종하여, 염증유도물질인 LPS와 쿠르쿠민, 분죽 조추출물 및 산죽 조추출물을 각각 $0.032 \mu\text{g}/\text{ml} \sim 65 \mu\text{g}/\text{ml}$ 농도범위에서 일정한 농도간격으로 동시에 처리하였고 24 시간 배양 후 트리졸 시약(Trizol reagent)을 이용하여 RNA를 추출하였다.

<65> 추출된 RNA는 분광분석기(Spectrophotometer)로 분석한 결과 $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 값이 1.7이상이었고 전기영동(Denaturing agarose gel electrophoresis)을 수행하여 RNA의 순도를 확인하였다. 역전사효소반응(Reverse transcription)은 25°C 에서 10분, 48°C 에서 30분, 95°C 에서 5분, 4°C 에서 10분으로 설정하여 1 사이클을 수행하였고, 중합효소반응(Polymerase chain reaction)은 50°C 에서 2분, 95°C 에서 10분, 95°C 에서 15초, 60°C 에서 1분으로 설정하여 40 사이클을 수행한 후, 내부의 대조군(internal control, 18S ribosomal RNA) 대비 시료에 의한 유전자 발현양상을 비교하였다.

<66> 실시간 유전자 발현분석을 통하여 유전자 발현양상을 대조군과 비교한 결과는 표 3에서 볼 수 있는 것처럼 iNOS 유전자 발현을 10 %까지 억제하는데 필요한 농도는 쿠르쿠민 $4 \mu\text{g}/\text{ml}$, $12.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 였으며, 분죽 조추출물은 $62.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ 였으며, 산죽 조추출물은 $65 \mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다.

<67>

【표 3】

농도	LPS	쿠르쿠민	분죽 조추출물	산죽 조추출물
0.032 $\mu\text{g}/\text{ml}$		60%		
0.16 $\mu\text{g}/\text{ml}$		60%		
0.625 $\mu\text{g}/\text{ml}$			40%	60%
0.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$		60%		
1.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$			65%	60%
4 $\mu\text{g}/\text{ml}$	90%	10%		
6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$			20%	42%
12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$		10%	30%	40%
25 $\mu\text{g}/\text{ml}$			30%	35%
62.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$			10%	15%
65 $\mu\text{g}/\text{ml}$				10%

<68> 비교예 2. iNOS에 대한 천연물의 농도별 IC50

<69> 상기 비교예 1의 결과를 토대로 iNOS유전자 발현에 대한 각 시료의 IC50을 계산하여 표 4에 나타내었다. 하기의 표 4에서 알 수 있는 것처럼, 쿠르쿠민의 IC50은 $5.3\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었고, 분죽 조추출물의 IC50은 $25\mu\text{g}/\text{ml}$ 이며, 산죽 조추출물은 $30\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다.

<70> 【표 4】

시료	상대적 iNOS 활성(% of 대조군, DMSO)																	IC50
	농도 (μg/ml)																	
	0.032	0.16	0.625	0.8	1.25	2.5	4	6.25	12.5	20	25	62.5	125	250	625	1250	2500	
쿠르쿠민	80.5	75.7		64.4			49.9			1.3								5.3
분죽조추출물			115.6		125.9	118.5		125	114.1		49.6	31.6	27.2	25.4	23.6	30.2	25.1	25
산죽조추출물			100		111	105		92	87		44	25	23.1	22	18	21	15	30

030019229

<71> 이상의 결과는 분죽 추출물 또는 산죽추출물이 염증반응에 관여하는 NO 활성을 저해하므로 항염증제 개발을 위한 근거를 제시하고 있다.

<72> 하기에 상기 약학조성물 또는 화장표 조성물의 제제예를 설명하나, 이는 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

<73> 제제예 1. 주사제제의 제조

<74> 실시예 1 분죽 조추출물 또는 실시예 6 산죽 조추출물.....100mg

<75> 소디움 메타비설파이트.....3.0mg

<76> 메틸파라벤.....0.8mg

<77> 프로필파라벤.....0.1mg

<78> 주사용 멸균증류수.....적 량

<79> 상기의 성분을 혼합하고 통상의 방법으로 2 ml로 한 후, 2 ml 용량의 앰플에 충전하고 멸균하여 주사제를 제조하였다.

<80> 제제예 2. 정제의 제조

<81> 실시예 1 분죽 조추출물 또는 실시예 6 산죽조추출물.....200mg

<82> 유당.....100 mg

<83> 전분.....100 mg

<84> 스테아린산 마그네슘.....적 량

<85> 상기의 성분을 혼합하고 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

<86> 제제에 3. 캡슐제의 제조

<87> 실시예 1 분죽 조추출물 또는 실시예 6 산죽 조추출물.....100 mg

<88> 유당.....50 mg

<89> 전분.....50 mg

<90> 탈크.....2 mg

<91> 스테아린산 마그네슘.....적 량

<92> 상기의 성분을 혼합하고 통상의 캡슐제의 제조방법에 따라서 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡
 술제를 제조하였다.

<93> 제제에 4. 액제의 제조

<94> 실시예 1 분죽 조추출물 또는 실시예 6 산죽조추출물.....1000 mg

<95> 설탕.....20 g

<96> 이성화당.....20 g

<97> 레몬향.....적 량

<98> 정제수를 가하여 전체 100 ml로 맞추었다.

<99> 상기의 성분을 통상의 액제의 제조방법에 따라서 혼합하고 100ml 의 갈색병에 충전하고
 멸균시켜서 액제를 제조하였다.

<100> 제제예 5. 건강기능식품의 제조

<101> 실시예 1 분죽 조추출물 또는 실시예 6 산죽 조추출물.....	1000 mg
<102> 비타민 혼합물.....	20 g
<103> 비타민 A 아세테이트.....	70 µg
<104> 비타민 E.....	1.0 mg
<105> 비타민 B ₁	0.13 mg
<106> 비타민 B ₂	0.15 mg
<107> 비타민 B ₆	0.5 mg
<108> 비타민 B ₁₂	0.2 µg
<109> 비타민 C.....	10 mg
<110> 비오틴.....	10 µg
<111> 니코틴산아미드.....	1.7 mg
<112> 엽산.....	50 µg
<113> 판토텐산 칼슘.....	0.5 mg
<114> 무기질 혼합물.....	적 량
<115> 황산제1철.....	1.75 mg
<116> 산화아연.....	0.82 mg
<117> 탄산마그네슘.....	25.3 mg
<118> 제1인산칼륨.....	15 mg
<119> 제2인산칼슘.....	55 mg

<120> 구연산칼륨.....	90 mg
<121> 탄산칼슘.....	100 mg
<122> 염화마그네슘.....	24.8 mg

<123> 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강기능 식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강 기능식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

<124> 제제에 6. 건강 음료의 제조

<125> 실시예 1 분죽 조추출물 또는 실시예 6 산죽 조추출물.....	1000 mg
<126> 구연산.....	1000 mg
<127> 올리고당.....	100 g
<128> 매실농축액.....	2 g
<129> 타우린.....	1 g
<130> 정제수를 가하여 전체.....	900 ml

<131> 통상의 건강기능음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간동안 85℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강기능음료 조성물 제조에 사용한다.

<132> 상기 조성비는 비교적 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용 용도 등 지역적 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

<133> 제제에 7. 로션 제조

<134> 실시예 1 분죽 조추출물 또는 실시예 6 산죽 조추출물.....	4.00 (%)
<135> 갈조 엑기스.....	1.00
<136> 시트르산나트륨.....	0.10
<137> 시트르산.....	0.05
<138> 1,3-부틸렌글리콜.....	3.00

<139> 정제수로 전량을 100으로 하였으며, 상기의 배합비(%)로 로션을 제조하였다.

<140> 제제에 8. 크림 제조

<141> 실시예 1 분죽 조추출물 또는 실시예 6 산죽 조추출물.....	1.00(%)
<142> 폴리에틸렌글리콜모노스테알레이트.....	2.00
<143> 자기유화형모노스테아르산글리세린.....	5.00
<144> 세틸알코올.....	4.00
<145> 스쿠알렌.....	6.00
<146> 트리2-에틸헥산산글리세릴.....	6.00
<147> 스펅고당지질.....	1.00

<148> 1.3-부틸렌글리콜.....7.00

<149> 정제수로 전량을 100으로 하였으며, 상기의 배합비로 크림을 제조하였다.

【발명의 효과】

<150> 본 발명의 분죽 추출물 또는 산죽추출물은 상기 실험에서 염증반응에 관여하는 대식세포에서의 NO 저해 활성을 나타내므로, 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 의약품 및 건강기능식품으로 사용할 수 있다.

출력 일자: 2005/1/19

030019229

【특허청구범위】

【청구항 1】

분죽(숨대, *Phyllostachys nigra* var. *henonis*) 조추출물 또는 산죽(조릿대, *Sasa borealis* Makino) 조추출물을 유효성분으로 함유하는 항염증용 약학조성물

【청구항 2】

제 1항에 있어서, 조추출물은 물, 저급알코올 같은 극성용매 또는 이들의 혼합용매로 추출된 것인 항염증용 약학조성물.

【청구항 3】

분죽 비극성 용매 추출물 또는 산죽 비극성 용매 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 항염증용 약학조성물.

【청구항 4】

제 3항에 있어서, 비극성용매 가용 추출물은 n-헥산, 디클로로메탄, 에틸 아세테이트로부터 선택된 용매로 추출된 것인 항염증용 약학조성물.

030019229

【청구항 5】

분죽 극성용매 추출물 또는 산죽 극성용매 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 항염증용 약학조성물.

【청구항 6】

제 5 항에 있어서, 극성용매 가용 추출물은 아세톤, n-부탄올, 에탄올, 메탄올 또는 물로부터 선택된 용매로 추출된 것인 항염증용 약학조성물.

【청구항 7】

제 1항 내지 제 6항 중 어느 한 항에 있어서, 분죽 추출물 또는 산죽 추출물은 분죽 또는 산죽의 잎 또는 줄기로부터 추출된 것인 항염증용 약학조성물.

【청구항 8】

제 1항 내지 제 6항 중 어느 한 항에 있어서, 염증성 질환은 염증 및 염증반응에 의해 발생하는 위염, 대장염, 관절염, 신장염, 간염, 암 또는 퇴행성 질환인 약학 조성물.

【청구항 9】

염증성 질환의 예방효과를 나타내는 분죽 추출물 또는 산죽 추출물 및 식품학적으로 허용되는 식품 보조 첨가제를 함유하는 건강기능식품.

【청구항 10】

제 9항에 있어서, 건강음료인 건강기능식품.

【청구항 11】

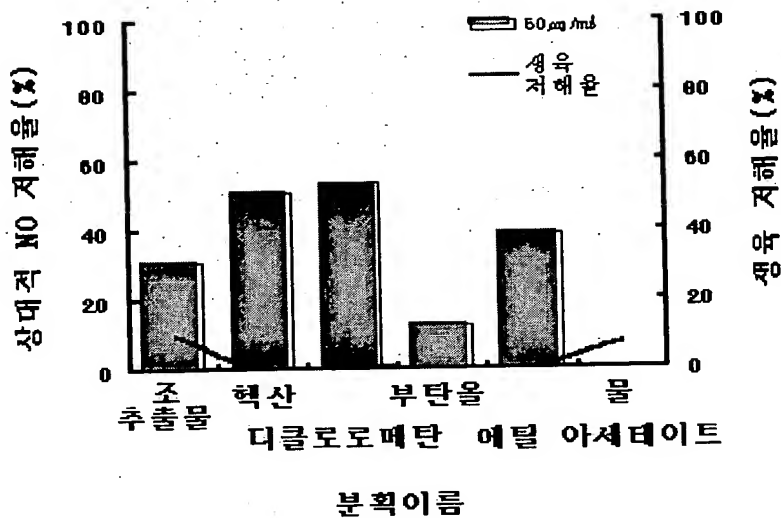
염증성 질환의 예방효과를 나타내는 분죽 추출물 또는 산죽 추출물 및 보조 첨가제를 함유하는 피부약제 또는 화장료인 항염조성물

1 030019229

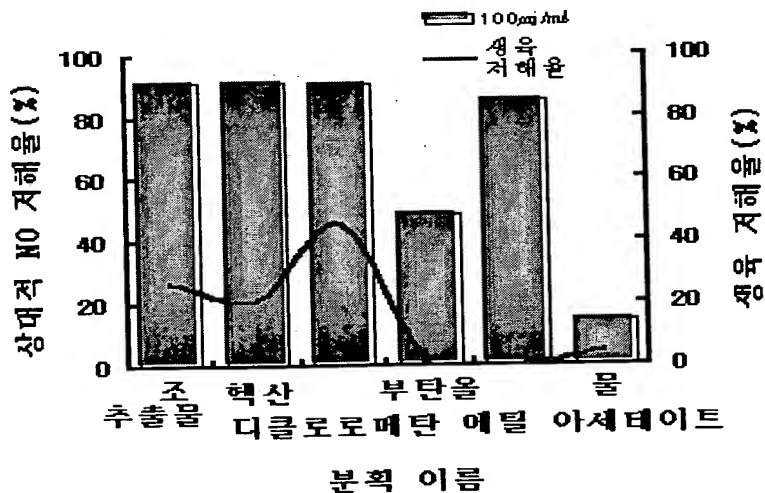
출력 일자: 2005/1/19

【도면】

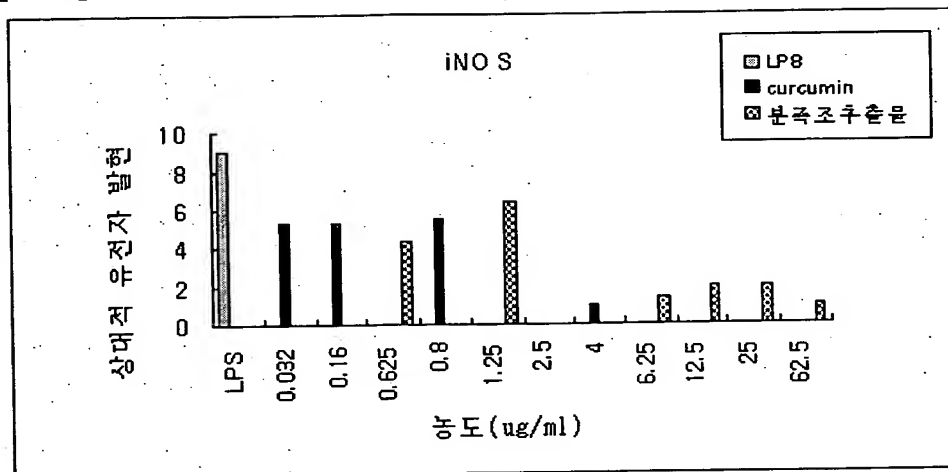
【도 1a】



【도 1b】



【도 2】



【서지사항】

【서류명】 명세서 등 보정서
【수신처】 특허청장
【제출일자】 2003.05.12
【제출인】
【명칭】 주식회사 유니젠
【출원인코드】 1-2000-018162-5
【사건과의 관계】 출원인
【대리인】
【성명】 신동인
【대리인코드】 9-2000-000156-1
【포괄위임등록번호】 2003-016755-3
【사건의 표시】
【출원번호】 10-2003-0019229
【출원일자】 2003.03.27
【발명의 명칭】 항염증 활성을 지닌 분죽 추출물 또는 산죽 추출물
을 함유하 는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학조
성물
【제출원인】
【접수번호】 1-1-2003-0108855-15
【접수일자】 2003.03.27
【보정할 서류】 명세서등
【보정할 사항】
【보정대상항목】 별지와 같음
【보정방법】 별지와 같음
【보정내용】 별지와 같음
【취지】 특허법시행규칙 제13조·실용신안법시행규칙 제8조의 규
정에의하여 위와 같 이 제출합니다. 대리인
신동인 (인)
【수수료】
【보정료】 0 원
【추가심사청구료】 0 원
【기타 수수료】 0 원
【합계】 0 원

1020030019229

출력 일자: 2005/1/19

【첨부서류】

1. 보정내용을 증명하는 서류_1통

【보정대상항목】 식별번호 1

【보정방법】 정정

【보정내용】

도 1a 및 도 1b는 분죽 조추출물과 각 용매분획물의 농도별 NO저해효과를 관찰한 도이다.

【보정대상항목】 식별번호 5

【보정방법】 정정

【보정내용】

이러한 염증반응에 관여하는 염증성 인자인 NO(nitric oxide)는 NO 합성효소(nitric oxide synthase, NOS)에 의해 L-알지닌(L-arginine)으로부터 중간 대사물인 히드록시알지닌(hydroxyarginine)을 거쳐 NO와 시트룰린(citrulline)이 만들어 진다. NO는 생물학적 활성을 지닌 것으로 매우 작은 분자량을 갖고 있는 물질로써 생체 내에서 혈관계에 작용하여 혈관확장, 혈소판 부착 및 응집, 신경전달, 소화기관 운동 등에 관여하는 매개물질이며, 여러 가지 대사 조절 작용 및 생리 작용(신경전달, 혈액응고, 혈압조절, 암세포에 대한 면역 등)을 담당하는 것으로 밝혀져 있으며, 염증세포 뿐만 아니라 비 면역세포에서도 생성되어 미생물 감염에 대한 방어작용을 한다. 일반적으로 NO는 대기 상태에서 가스의 형태로 존재하며, 자유 라디칼 구조이기 때문에 매우 유독할 뿐만 아니라 반감기가 6~10초로 매우 불안정하여, 안정화된 최종 산물인 NO₃(nitrate)와 NO₂(nitrite)로 신속히 변환되는 것으로 알려져 있다(Snyder, S. H., et al., *Scientific American*, May, pp28-35, 1992).

【보정대상항목】 식별번호 6

【보정방법】 정정

【보정내용】

한편, NO 생성에 관여하는 NOS는 칼슘(Ca^{2+})이나 칼모듈린(camodulin) 의존성 여부에 따라 크게 2가지 즉, cNOS(constitutive NOS)와 iNOS(inducible NOS)로 분류되는데, cNOS는 칼슘이나 칼모듈린 의존성이고 주로 뇌, 상피세포, 호중구, 위장 점막 세포에 존재하며, iNOS는 칼슘이나 칼모듈린 비의존성으로 iNOS는 대식세포, 간세포, 암세포 등에 존재하며, IL- 1β (interlukin- 1β), IFN- γ (interferon- γ), TNF- α (tumor necrosis factor- α) 등과 같은 사이토카인류(cytokines)와 내독소인 세균성 LPS(lipopolysaccharide) 등에 의해 유도된다(Dinerman, J. L., *et al.*, *Circ. Res.*, 73, pp217-222, 1993). 이러한 자극에 의하여 COX-2(cyclooxygenase-2)도 함께 활성화되어 염증매개물질인 PGs(prostaglandines)가 생성되기 때문에 iNOS 발현과 COX-2의 발현은 매우 밀접한 관련이 있으며, 생성된 NO는 COX-2 발현에 영향을 주기도 한다(Robert C., *et al.*, *J. Immunol.*, 165, pp1582-1587, 2000; Daniela S., *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, pp7240-7244, 1993).

【보정대상항목】 식별번호 10

【보정방법】 정정

【보정내용】

분죽(숨대)은 학명이 필로스타키스 니그라 바. 헤노니스(*Phyllostachys nigra* var. *henonis*)로서 다년생 상록목본으로 땅속줄기가 옆으로 자라면서 마디에서 자라
높이 10 m에 달한다. 죽순은 4~5월에 나오고 갈색이며 식용한다.

【보정대상항목】 식별번호 20

【보정방법】 정정

【보정내용】

상기 분죽 조추출물 또는 산죽 조추출물은 물, 에탄올, 메탄올과 같은 저급알콜
또는 이들의 혼합용매, 바람직하게는 물, 50%, 70% 또는 95%의 에탄올, 더욱 바람직하
게는 70 % 에탄올로 추출한 것을 포함한다.

【보정대상항목】 식별번호 25

【보정방법】 정정

【보정내용】

상기의 분죽 조추출물 또는 산죽 조추출물은 각각 물에 현탁한 후, n-헥산, 디
클로로메탄, 에틸 아세테이트, n-부탄올 순으로 용매를 이용하여 본 발명의 분죽 또는
산죽의 각 용매 분획물을 수득할 수 있는데, 바람직하게는 분죽 조추출물 또는 산죽
조추출물에 각각 등량의 n-헥산과 물의 혼합용매를 사용하여 분죽 또는 산죽의 n-헥산
가용성 분획물 및 수가용성 분획물을 수득할 수 있고, 다시 상기 각각의 수가용성 분

획물을 디클로로메탄으로 추출하여 분죽 또는 산죽의 디클로로메탄 가용성 분획물 및 수가용성 분획물을 수득할 수 있으며, 이 각각의 수가용성 분획물에 에틸아세테이트를 가하여 분죽 또는 산죽의 에틸 아세테이트가용성 분획물 및 수가용성 분획물을 수득할 수 있고, 마지막으로 상기 각각의 수가용성 분획물을 n-부탄올로 추출하여 분죽 또는 산죽의 n-부탄올가용성 분획물과 수가용성 분획물을 얻을 수 있다.

【보정대상항목】 식별번호 27

【보정방법】 정정

【보정내용】

또한 상기 염증반응에 의해 발생하는 염증성 질환에는 염증 및 염증 반응에 의해 발생하는 위염, 대장염, 관절염, 신장염, 간염, 암 또는 퇴행성 질환 등이 포함된다.

【보정대상항목】 식별번호 62

【보정방법】 정정

【보정내용】

【표 2】

대 나 무	시 료	대 조 군	LPS	조 주 출 물	n-헥 산 층	디 클 로 로 메 탄 층	에 틸 아 세 테 이트 층	n-부 탄 올 층	수 층
분 죽	50 μg/ml	0.34 %	0.10 %	33.1 %	51.0 %	53.6 %	39.1 %	12.5 %	11.9 %
	100 μg/ml	0.38 %	0.12 %	73.2 %	91.1 %	90.8 %	85.5 %	48.5 %	14.5 %
산 죽	50 μg/ml	0.23%	0.15 %	21.5 %	45.2 %	48.5 %	30.1 %	9.4 %	0 %
	100 μg/ml	0.25 %	0.14 %	60.3 %	84.3 %	82.4 %	80 %	35.1 %	9.4 %

【보정대상항목】 식별번호 70

【보정방법】 정정

【보정내용】

【표 4】

시료	상대적 iNOS 활성(% of 대조군, DMSO)																	IC50
	농도(μg/ml)																	
	0.032	0.16	0.625	0.8	1.25	2.5	4	6.25	12.5	20	25	62.5	125	250	625	1250	2500	
쿠르 크민	80.5	75.7		64.4			49.9			1.3								5.3
분죽 조추출물			115.6		125.9	118.5		125	114.1		49.6	31.6	27.2	25.4	23.6	30.2	25.1	25
산죽 조추출물			100		111	105		92	87		44	25	23.1	22	18	21	15	30

【보정대상항목】 식별번호 74

【보정방법】 정정

【보정내용】

실시에 1 분죽 조추출물100mg

【보정대상항목】 식별번호 81

【보정방법】 정정

【보정내용】

실시에 1 분죽 조추출물200mg

【보정대상항목】 식별번호 87

【보정방법】 정정

【보정내용】

실시에 1 분죽 조추출물100 mg

【보정대상항목】 식별번호 94

【보정방법】 정정

【보정내용】

실시에 1 분죽 조추출물1000 mg

【보정대상항목】 식별번호 101

【보정방법】 정정

【보정내용】

실시에 1 분죽 조추출물1000 mg

【보정대상항목】 식별번호 125

【보정방법】 정정

【보정내용】

실시에 1 분죽 조추출물1000 mg

【보정대상항목】 식별번호 134

【보정방법】 정정

【보정내용】

실시에 1 분죽 조추출물4.00 (%)

【보정대상항목】 식별번호 141

【보정방법】 정정

【보정내용】

실시에 1 분죽 조추출물1.00(%)

【보정대상항목】 청구항 1

【보정방법】 정정

【보정내용】

분죽(숨대, *Phyllostachys nigra* var. *henonis*) 조추출물 또는 산죽(조릿대, *Sasa borealis* Makino) 조추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물.

【보정대상항목】 청구항 2

【보정방법】 정정

【보정내용】

제 1항에 있어서, 조추출물은 물, 에탄올, 메탄올과 같은 저급알콜 또는 이들의 혼합용매로 추출된 것인 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물.

【보정대상항목】 청구항 3

【보정방법】 정정

【보정내용】

분죽 비극성 용매 추출물 또는 산죽 비극성 용매 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물.

【보정대상항목】 청구항 4

【보정방법】 정정

【보정내용】

제 3항에 있어서, 비극성용매 가용 추출물은 n-헥산, 디클로로메탄, 에틸 아세테이트로부터 선택된 용매로 추출된 것인 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물.

【보정대상항목】 청구항 5

【보정방법】 정정

【보정내용】

분족 극성용매 추출물 또는 산족 극성용매 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물.

【보정대상항목】 청구항 6

【보정방법】 정정

【보정내용】

제 5 항에 있어서, 극성용매 가용 추출물은 아세톤, n-부탄올, 에탄올, 메탄올 또는 물로부터 선택된 용매로 추출된 것인 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물.

【보정대상항목】 청구항 7

【보정방법】 정정

【보정내용】

제 1항 내지 제 6항 중 어느 한 항에 있어서, 분죽 추출물 또는 산죽 추출물은 분죽 또는 산죽의 잎 또는 줄기로부터 추출된 것인 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물.

【서지사항】

【서류명】

명세서 등 보정서

【수신처】

특허청장

【제출일자】

2003.10.28

【제출인】

【명칭】

주식회사 유니젠

【출원인코드】

1-2000-018162-5

【사건과의 관계】

출원인

【대리인】

【성명】

신동인

【대리인코드】

9-2000-000156-1

【포괄위임등록번호】

2003-016755-3

【사건의 표시】

【출원번호】

10-2003-0019229

【출원일자】

2003.03.27

【심사청구일자】

2003.05.12

【발명의 명칭】

항염증 활성을 지닌 분족 추출물 또는 산죽 추출물
을 함유하 는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학조
성물

【제출원인】

【발송번호】

9-5-2003-0283383-17

【발송일자】

2003.07.28

【보정할 서류】

명세서등

【보정할 사항】

【보정대상항목】

별지와 같음

【보정방법】

별지와 같음

【보정내용】 별지와 같음

【취지】

특허법시행규칙 제13조·실용신안법시행규칙 제8조의 규
정에의하여 위와 같 이 제출합니다. 대리인
신동인 (인)

1020030019229

출력 일자: 2005/1/19

【수수료】

【보정료】

【추가심사청구료】

【기타 수수료】

【합계】

【첨부서류】

0 원

0 원

0 원

0 원

1. 보정내용을 증명하는 서류_1통

【보정대상항목】 요약

【보정방법】 정정

【보정내용】

본 발명은 항염증 활성을 갖는 분죽 추출물을 함유하는 항염증용 약학조성물에 관한 것으로, 본 발명의 분죽 추출물은 염증유도물질인 지질다당체 LPS로 활성화한 대식세포에서 NO 저해 활성을 나타내므로, 항염증제로 염증반응에 의해 유발되는 여러 염증성 질환의 예방 및 치료를 위한 의약품으로 사용될 수 있다.

【보정대상항목】 색인어

【보정방법】 정정

【보정내용】

분죽 추출물, 산죽 추출물, 항염증, 염증성 질환, 의약품.

【보정대상항목】 발명(고안)의 명칭

【보정방법】 정정

【보정내용】

항염증 활성을 지닌 분죽 추출물을 함유하는 염증성 질환의 예방 및 치료용 약학조성물{Pharmaceutical composition comprising the extract of Phyllostachys nigra var. henonis having anti-inflammatory activity for the prevention and treatment of inflammatory disease}

【보정대상항목】 식별번호 3

【보정방법】 정정

【보정내용】

본 발명은 항염증 활성을 지닌 분죽 추출물을 함유하는 염증성 질환의 예방 및 치료를 위한 약학조성물에 관한 것이다.

【보정대상항목】 식별번호 17

【보정방법】 정정

【보정내용】

본 발명은 항염증 효과를 나타내는 새로운 식물 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물 또는 이를 함유하는 의약품을 제공하는 것이다.

【보정대상항목】 식별번호 18

【보정방법】 정정

【보정내용】

상기 목적에 따라, 본 발명에서는 분죽의 조추출물, 극성용매 가용추출물 또는 비극성용매 가용추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물을 제공한다.

【보정대상항목】 식별번호 19

【보정방법】 정정

【보정내용】

상기 분죽(*Phyllostachys nigra* var. *henonis*)은 줄기 또는 잎 부분을 사용할 수 있다.

【보정대상항목】 식별번호 20

【보정방법】 정정

【보정내용】

상기 분죽 조추출물은 물, 에탄올, 메탄올과 같은 저급알콜 또는 이들의 혼합용매, 바람직하게는 물, 50%, 70% 또는 95%의 에탄올, 더욱 바람직하게는 70 % 에탄올로 추출한 것을 포함한다.

【보정대상항목】 식별번호 21

【보정방법】 정정

【보정내용】

상기 분죽 비극성용매 가용추출물은 n-헥산, 디클로로메탄, 클로로포름 또는 에틸 아세테이트로부터 선택된 비극성용매, 바람직하게는 n-헥산, 디클로로메탄, 에틸 아세테이트로 추출한 것을 포함한다.

【보정대상항목】 식별번호 22

【보정방법】 정정

【보정내용】

상기 분죽 극성용매 가용추출물은 아세톤, n-부탄올, 에탄올, 메탄올 또는 물로부터 선택된 극성용매, 바람직하게는 n-부탄올로 추출한 것을 포함한다.

【보정대상항목】 식별번호 26

【보정방법】 정정

【보정내용】

발명은 상기 방법으로 수득된 분죽 조추출물, 비극성용매 가용 추출물 또는 극성용매 가용추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학 조성물을 제공한다.

【보정대상항목】 식별번호 29

【보정방법】 정정

【보정내용】

본 발명의 분죽 추출물을 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학 조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 추출물을 0.1 내지 50 중량 %로 포함한다.

【보정대상항목】 식별번호 30

【보정방법】 정정

【보정내용】

또한, 본 발명의 분죽 추출물을 포함하는 조성물은 약학조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.

【보정대상항목】 식별번호 72

【보정방법】 정정

【보정내용】

하기에 상기 약학조성물, 건강기능식품 또는 화장료 조성물의 제제예를 설명하나, 이는 본 발명을 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

【보정대상항목】 청구항 1

【보정방법】 정정

【보정내용】

분죽(솜대, *Phyllostachys nigra* var. *henonis*) 조추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물.

【보정대상항목】 청구항 3

【보정방법】 정정

【보정내용】

분죽 비극성 용매 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물.

【보정대상항목】 청구항 5

【보정방법】 정정

【보정내용】

분족 극성용매 추출물을 유효성분으로 함유하는 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물.

【보정대상항목】 청구항 7

【보정방법】 정정

【보정내용】

제 1항 내지 제 6항 중 어느 한 항에 있어서, 분족 추출물은 분족의 잎 또는 줄기로부터 추출된 것인 염증성 질환의 치료 및 예방을 위한 약학조성물.

【보정대상항목】 청구항 9

【보정방법】 삭제

【보정대상항목】 청구항 10

【보정방법】 삭제

【보정대상항목】 청구항 11

【보정방법】 삭제

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.